GUÍA DE PROBLEMAS 6-
Métodos instrumentales. Espectroscopía y sus aplicaciones en agronomía



En esta guía te presentamos algunas situaciones problemáticas sobre uno de los métodos instrumentales de importancia en los análisis químicos, la espectroscopía de absorción molecular, aplicada a productos agropecuarios, por ejemplo, la determinación de hierro en vino y el análisis del contenido de proteína para estudiar calidad de silaje; y a suelos agrícolas como son la cuantificación de carbono orgánico y la determinación de fósforo disponible.

1- Una solución 4,90 ppm de Fe (III) se trata con exceso de sulfocianuro de potasio (KSCN) para formar el complejo rojizo sulfocianuro férrico ($FeSCN^{2+}$), cuya absortividad molar a 580 nm es 7.10^3 L cm^{-1} mol^{-1}.

a) Predice cuál sería el valor de absorbancia (A) y el de porcentaje de transmitancia (%T) de la solución en una celda de 1,00 cm, si se cumple la ley de Beer

b) ¿Cuál sería la A y el %T para el caso de una dilución 1:10 de la solución de Fe (III) manteniendo iguales las demás condiciones?

c) Con los resultados obtenidos en los incisos a) y b), analiza las relaciones entre concentración, absorbancia y transmitancia.

2- Se realizó una curva patrón de Hierro III construida a partir de soluciones estándares de este ión y haciendo reaccionar con exceso de sulfocianuro de potasio. Con un espectrofotómetro y en celdas de 1 cm se midieron las absorbancias del complejo.

% Fe	0,002	0,003	0,004	0,005	0,007	0,008
Absorbancia	0,190	0,270	0,300	0,455	0,644	0,590

a) ¿Cómo se preparan 100mL de cada una de las soluciones estándar a partir de la solución madre de 0,5% de Fe?

b) Calcula en forma analítica la pendiente de la curva % Fe versus Absorbancia. Grafica absorbancia en función de la concentración. ¿Se cumple la ley de Beer? ¿Debe descartarse algún punto? Justifica

3- Dos soluciones A y B de $CuSO_4$ de concentración desconocida son analizadas por espectrofotometría. Se construyó una curva de calibración a partir de soluciones estándares y se midió Absorbancia a 660 nm en una celda de 1,0 cm. Los datos obtenidos de la curva de calibración se muestran en la tabla

Concentración ($ppmCuSO_4$)	0	10	20	30	40	50	Sol A	Sol B
Absorbancia	0,000	0,251	0,510	0,745	1,004	1,260	0,629	1,567

a) Traza el gráfico de absorbancia en función de la concentración y verifica el cumplimiento de la ley de Lambert-Beer

b) Averigua en forma analítica la pendiente del gráfico

c) Calcula las concentraciones correspondientes a las soluciones desconocidas A y B

d) En el caso de la solución B, ¿se puede informar con certeza el resultado? ¿Por qué? ¿Cómo puedes resolver esta situación en la práctica?



En el siguiente enlace encontrarás el video con la resolución del problema https://www.youtube.com/watch?v=-06I4fTvS8s

4- Para el control de calidad de vino, se cuantifica Fe (III) por espectrofotometría. El origen del hierro en un vino se debe a la propia composición de la uva, pero también podría provenir de las tierras de cultivo tratadas con sulfato ferroso como fitosanitario o un origen accidental que proviene de los contactos del mosto con los recipientes metálicos. Un vino es de buena calidad si su contenido en Fe es de 0,5 a 5 mg/L. El Fe III se hace reaccionar con NaSCN para dar un complejo de color rojo: $[Fe(SCN)]^{+2}$ cuya absorbancia puede medirse.

I- **Procedimiento para la curva de calibración.** Se realizan diluciones de solución estándar con el reactivo: en sendos matraces aforados de 25 mL se agregan 5 mL de etanol 20° y alícuotas de 0; 1; 2; 3; 4 y 5 mL de solución $FeCl_3$ que contiene $2,5 \cdot 10^{-2}$ g/L de Fe III, 1 mL de NaSCN 20% m/v y agua hasta el aforo.

II-**Procedimiento para la muestra**. Se colocan 10 mL de vino en un matraz aforado de 25 mL y se agregan los reactivos tal cual se procedió con los estándares.

III- **Lecturas espectrofotométricas**. Se mide absorbancia del complejo coloreado a 510 nm en cubeta de 1 cm de cada matraz de calibración y de la muestra. La recta del gráfico Abs corregida versus g/L Fe (III) es: Y= 130. X. La absorbancia corregida de la muestra fue 0,219.

a) Identifica en este análisis: analito, sustancia absorbente, muestra, estándar

b) Completa el protocolo de colorimetría de acuerdo con los datos experimentales y en la última fila, registra el valor calculado de la concentración de Fe III en cada matraz aforado desde B (Blanco) a 5.

	B	1	2	3	4	5	muestra
Vol de Sol estándar (ml)							
Vol de muestra (mL)							
Vol de Reactivo (mL)							
Vol final							
Concentración de Fe III en el matraz (g/L)							

c) Calcula el contenido de Fe en el vino y determina si cumple el criterio establecido.

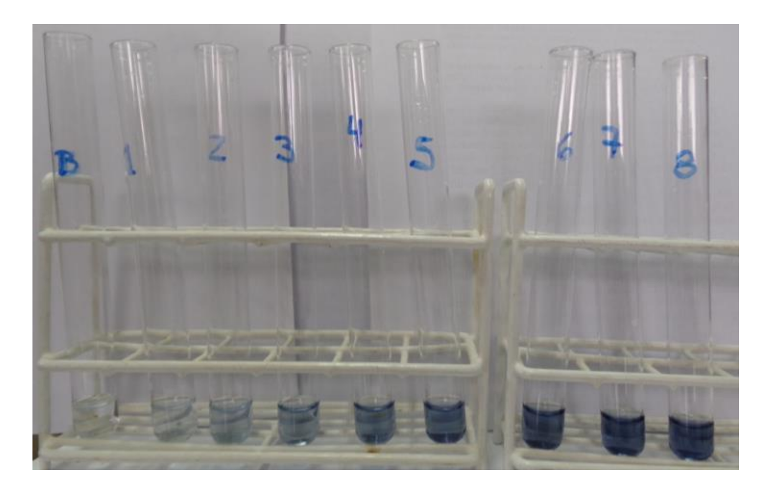
d) ¿Cómo influiría en la medida espectrofotométrica y en el resultado del análisis si se toma una alícuota de 5 mL de muestra? Argumenta la respuesta

f) Según los datos experimentales, ¿cuál es el valor de absortividad (**a)** del complejo?

5- Se quiere determinar fósforo disponible en suelo mediante el método de Bray Kurtz que se basa en la extracción previa de fósforo disponible y posterior reacción con el reactivo de Murphy y Riley para la formación del **azul de molibdeno** que se mide por espectrometría de absorción molecular. Se construye una curva de calibración con solución estándar 3 ppm de P siguiendo el protocolo detallado en la tabla. Para la muestra, se pesa 0,978 g, se trata con 7 mL de solución extractiva y se filtra, tomando una alícuota de 1 mL para la colorimetría. La absorbancia de la muestra fue 0,157.

Tubo →	**blanco**	**1**	**2**	**3**	**4**	**Muestra**
mL sol.3 ppm P	0	0,2	0,4	0,8	1,6	
mL de mezcla reactiva	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
mL H_2O	5,2	5,0	4,8	4,4	3,6	
mL ác. ascórbico	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	
Absorbancia	0,022	0,082	0,141	0,262	0,506	
Absorbancia corregida (Abs_x – Abs_{blanco})						
Ppm P						

Nota: la mezcla reactiva está formada por: H_2SO_4, molibdato de amonio y tartrato de antimonio y potasio



Ejemplo de curva patrón para fósforo disponible en suelo, en este caso se observa el tubo B (blanco, sin muestra) y 8 tubos conteniendo concentraciones conocidas y crecientes de P. Observa que el color azul formado luego del agregado de reactivo de colorimetría es más intenso a mayor concentración de fósforo.

a) Agrega al protocolo de la curva de calibración, una columna que corresponda a la muestra

b) Calcula la concentración de P en cada tubo de la curva de calibración y con estos valores completa la última fila del protocolo

c) Escribe la ecuación de la recta de calibración.

d) Calcula el contenido de P del suelo en ppm.



Puedes acceder al siguiente enlace para ver la resolución de este problema https://youtu.be/YRJQ4dLoHM8

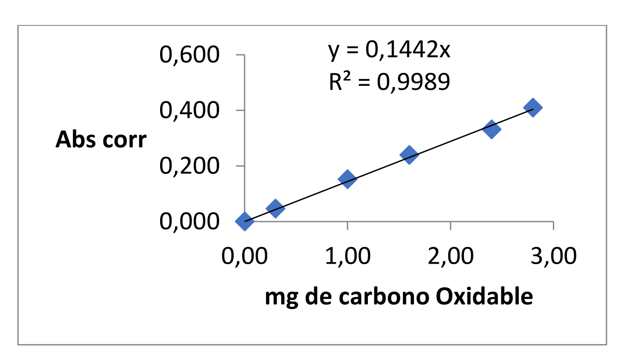
6- En un laboratorio se analiza el contenido en carbono oxidable de un suelo por espectrometría de absorción. El carbono orgánico del suelo reacciona con $K_2Cr_2O_7$ en medio ácido; como resultado se produce ión Cr^{+3} de color verde cuya concentración se determina realizando lecturas de absorbancia a longitud de onda apropiada. Para la curva de calibración se utiliza solución estándar 0,25 % m/v de ftalato ácido de potasio ($KHC_8H_4O_4$) como fuente de carbono orgánico. Se realiza un barrido espectral; y los datos obtenidos son:

λ	490	510	530	550	570	590	610	630	650	670	690	710
Absorb	0,130	0,133	0,140	0,170	0,215	0,219	0,215	0,180	0,120	0,110	0,100	0,100

Observa en la siguiente imagen una curva de calibración en la cual el color verde debido al ión Cr III es de mayor intensidad de izquierda a derecha.



Con la lectura de las absorbancias de la curva de calibración a la longitud de onda seleccionada se obtuvo el siguiente gráfico:



El tubo "muestra" contenía 53,8 mg de suelo y la absorbancia corregida del filtrado dio 0,311.

a) En este ensayo, identifica: analito, muestra, estándar, especie absorbente

b) A partir de los datos del barrido espectral, ¿Cuál habrá sido la longitud de onda seleccionada? Argumenta la respuesta

c) De acuerdo con el gráfico de la curva de calibración, analiza si se cumple la ley de Beer

d) Con los datos obtenidos, averigua el porcentaje de Carbono oxidable del suelo

7- Los verdeos diferidos de invierno son una valiosa herramienta en la cadena forrajera ya que permiten disponer de una gran cantidad de pasto en momentos en que las pasturas perennes presentan baja disponibilidad de forraje. Se caracteriza un verdeo diferido de avena que se utilizará como concentrado proteico para alimentar vacas en el último tercio de gestación. Para esto se determina el % de proteína: el fundamento de la metodología es digerir el verdeo con H_2SO_4 (c) y determinar el NH_4^+ producido por

reacción con fenol e hipoclorito de sodio en medio alcalino, generando un compuesto coloreado cuya absorbancia se mide a 660 nm. Para el procedimiento se pesan 150 mg de verdeo, se digiere y diluye a 100 mL. Se toma 2 mL de alícuota y se agrega reactivo de colorimetría y agua destilada hasta 50 mL de volumen final. La ecuación de la recta fue Y= 3,716.X, siendo X mgN en la mezcla de colorimetría. La absorbancia corregida del digesto resultó ser 0,330.

a) Calcula el % de N y el % de proteína del verdeo sabiendo que % prot= %N x 6,25



Te proponemos que selecciones el problema 1 o 7, escanea tu resolución y sube el archivo en el foro del aula  **. Discutiremos las resoluciones en clase**



1-a)0,6125 A y 24,4 %T

b) 0,06125 A y 86,8 %T

2- a) 0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL; 1 mL; 1, 4 y 1,6 mL

b) Pendiente 92

3-b) 0,0251

c) 25,0 ppm A y 62,4 ppm B

4- a) 0; 1.10^{-3}; 2.10^{-3}; 3.10^{-3}; 4.10^{-3}; 5.10^{-3} g/L Fe c) 4,2 mg/L Fe f) 130 L.cm/g

5- d) 9,7 ppm P

6- b) 590 nm; d) 4,07% Cox

7- b) 2,96%N; 18,5% prot

Autor: María Alejandra Goyeneche

Cómo citar: Goyeneche, M. A. (2020). Guía de problemas 6- Métodos instrumentales. Espectroscopía y sus aplicaciones en agronomía. Azul. Facultad de Agronomía. UNCPBA.